

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН ІМЕНІ М.В.ЗУБЦЯ
ННЦ «ІНСТИТУТ БДЖІЛЬНИЦТВА ІМЕНІ П. І. ПРОКОПОВИЧА»

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

З ОЦІНЮВАННЯ СТУПЕНЮ ПРОЯВУ ЗАХИСНОЇ ПОВЕДІНКИ БДЖОЛИНИХ СІМЕЙ УКРАЇНСЬКОЇ СТЕПОВОЇ ПОРОДИ

Чубинське

2018

УДК 638.123:591.571

М 54

Методичні рекомендації з оцінювання ступеню прояву захисної поведінки бджолиних сімей української степової породи / О. І. Метлицька, О. А. Міщенко, ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича» М. Д. Палькіна; Інститут розведення і генетики імені М.В.Зубця – Чубинське, 2017. – 22 с.

* Дизайн обкладинки О. Ю. Іванова

Рекомендації розглянуто і рекомендовано до впровадження вченою радою Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН 29 листопада 2017 р. (протокол №11)

Рецензенти: доктор с.-г. наук, ст. наук. співробітник В. В. Дзіцюк (Інститут розведення і генетики імені М.В.Зубця НААН); кандидат с.-г. наук, ст. наук. співробітник М. О. Шамро (Національний Науковий Центр «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича»).

Висвітлено методичні засади визначення етологічних ознак бджіл української степової популяції, а саме: рівня захисної поведінки бджолиних сімей з метою подальшого застосування у селекційних програмах з удосконалення шляхом чистопородного розведення.

Розроблено методику розрахунку ступеню злобливості бджіл на рівні бджолої сім'ї у кількісних показниках, що дозволить отримати додаткові статистичні параметри деталізації стандарту породи, внести до нього відповідні корективи з метою отримання масиву бджіл з бажаними ознаками зниженої агресивності без втрати медопродуктивних якостей, збільшити конкурентоспроможність породи та її привабливість для пасічництва України в зонах затвердженого породного районування.

Розраховано на спеціалістів у сфері племінної справи, працівників бджолопідприємств, спеціалістів генетичних лабораторій, науковців, аспірантів, викладачів і студентів спеціальності «Бджільництво» закладів аграрної освіти III-IV рівнів акредитації.

© Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН
© ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича»

ЗМІСТ

Вступ□.....	4
1.Визначення термінів.....	7
2. Захисна поведінка бджіл як пристосування до соціальної форми існування.....	10
3. Загальні засади етологічних спостережень.....	13
3. 1. Створення етограм	13
3. 2. Способи фокусування спостережень	16
3. 3. Методи вивчення та обліку поведінки.....	17
3. 4. Вибір методів аналізу та обробки відібраного матеріалу...	17
4. Особливості етологічних досліджень бджіл.....	19
4. 1. Існуючі методики визначення поведінкових реакцій.....	19
4. 2. Підготовчі заходи перед проведенням досліджу.....	20
4. 3. Методика визначення злобливості бджолиних сімей.....	21
5. Статистична обробка результатів	23
Бібліографія	26

ВСТУП

Правильний вибір породи бджіл, що найкраще пристосована до певної місцевості, має важливе значення для підвищення медозборів, ефективності праці, отримання якісної продукції, зниження її собівартості. Проте, при виборі породної належності бджіл, переважна кількість пасічників не дотримується законодавчо затвердженого плану породного районування і, насамперед керується показниками зниженої рійливості і злобливості бджолиних сімей [8]. Масове завезення в Україну бджіл, переважно сірої гірської кавказької, карніки та гібридного бакфасту призвело до безсистемної метизації аборигенної української степової бджоли і поставило її на межу повного зникнення. При цьому починає втрачатися цінний генофонд цієї породи, що століттями формувався на тлі специфічних умов Степу та Лісостепу України.

Наразі, завдяки зусиллям пасічників-практиків та науковців, ця порода поступово відновлюється у ареалі свого природного розповсюдження. Методологічними основами системи збереження і відновлення генофонду української степової бджоли має бути її селекція, спрямована на підвищення консолідованості основних продуктивних ознак: сили сімей, зимостійкості, опірності інфекційним і паразитарним захворюванням, високим репродуктивним якостям маток, медової, прополісної та пилкової продуктивності.

Переважна частина зазначених ознак продуктивності генетично обумовлена і проявляється у фенотипі шляхом низки складних взаємопов'язаних реакцій поведінки окремих особин, бджолиних сімей і усієї популяції пасіки. Таким чином, основними завданнями селекційного покращення масиву української степової бджоли є розробка і практичне застосування методів морфологічної та молекулярно - генетичної оцінки її чистопородності та підходів щодо кількісної і якісної оцінки ступеня прояву поведінкових реакцій бджіл, насамперед щодо захисту гнізда – злобливості. Для вивчення

поведінкових ознак виду їх необхідно спостерігати в природному середовищі [1]. Саме етологія допомагає пояснити складну взаємодію генетично обумовленої поведінки та оточуючого середовища.

Поведінка бджіл, пов'язана із захистом колонії від зовнішніх втручань, є системою адаптивних особливостей і викликана проявом реакції бджолиної сім'ї на втручання природних ворогів у її життєдіяльність – ведмедів, куниць та мишоподібних гризунів із застосуванням жального апарату і отрути [3].

Злобливість переважної кількості підвидів медоносних бджіл значно змінюється протягом активного періоду в залежності від зовнішніх та внутрішніх факторів. Із зовнішніх умов на її прояв впливають погодні умови та наявність і віддаленість кормової бази. Із внутрішніх ключовими є стан здоров'я, сила сімей, частота зовнішніх втручань і спадкові особливості бджолиних сімей [29].

За даними багатьох науковців, повторюваність ступеня злобливості бджіл тісно пов'язана із різницею фонових, зовнішніх умов. Якщо умови для визначення ознаки суттєво відрізняються, тим більше якщо дати проведення повторних експериментів є значно віддаленими, ступінь повторюваності отриманих значень злобливості падає, навіть до негативних значень. Таким чином, полігенна обумовленість цієї ознаки і її значна норма реакції ускладнює отримання точних результатів кількісних вимірювань злобливості медоносних бджіл.

Суттєву роль у формуванні поведінки медоносних бджіл відіграє соціальне середовище, що пов'язано із змінами експресії генів мозку [14]. У медоносних бджіл (*Apis mellifera* L.) соціальна модуляція індивідуальної агресії дозволяє корегувати інтенсивність захисної відповіді на зовнішні загрози [22, 28]. На сьогодні доведено вплив зовнішніх факторів середовища, особливо феромону тривоги, на прояв агресивної поведінки бджолиних сімей і на експресію генів кластеру STING, що відповідають за злобливість бджіл. Таким чином можна стверджувати про індивідуальні особливості підвидів бджіл окремих популяцій відносно прояву цієї ознаки, необхідності

створення унікальних методик щодо кількісного визначення ступеня агресивності на рівні окремої бджолиної сім'ї як за спектром поведінкових реакцій, так і визначенням профілювання експресії генів, що їх детермінують [15].

Власними дослідженнями доведена відсутність тісної кореляції між ступенем злобливості бджолиних сімей української степової породи та рівнем їх медової продуктивності. Отже, небажана для практичного пасічництва ознака злобливості української степової бджоли може бути суттєво знижена селекційними методами, що дозволить ефективно впровадження науково обґрунтованих підходів щодо чистопородного збереження аборигенної бджоли в її природному ареалі.

1. Визначення термінів і скорочень

У даних методичних рекомендаціях наведені нижче терміни вживаються в такому значенні:

альтруїзм робочих бджіл – поведінка робочих бджіл, що найбільш очевидно проявляється всередині сім'ї, згідно якого одна особина жертвує своїм життям при захисті колонії і не виконує репродуктивних функцій;

бджолина сім'я – господарська і біологічна одиниця, форма існування виду *Apis mellifera* у складі трьох каст (поліморфізм), життєдіяльність яких забезпечується великою чисельністю робочих бджіл, фізіологічно позбавлених участі у процесі відтворення;

бджолина матка – плідна жіноча особина сім'ї з характерною властивістю поліандрії, посиленою функцією статеві системи, в якій формуються запліднені та незапліднені яйця, що є визначальним фактором досягнення високого рівня соціальності бджіл;

бджола-знищувач (стінгер) – каста бджіл, що виконують знешкодження небезпечних для благополуччя колонії особин;

бджола-вартовий (гарда) – каста бджіл, що охороняють літок від чужинців, представлені у кількості 10% від загальної кількості бджіл одного вулика;

екстер'єр бджіл – зовнішній вигляд, розміри тіла та окремих частин екзоскелету та їх співвідношення, що використовуються при визначенні породної належності переважно мікрометричним методом (за даними промірів та індексів);

етологія – наука, що вивчає генетично обумовлену поведінку (інстинкти) тварин;

етограма – детальний функціонально систематизований опис поведінки тварин у природних умовах;

етологічне сканування – облік поведінкових реакцій спостережуваних біологічних об'єктів;

загроза – для бджіл зовнішній фактор, що потенційно може спричинити шкоду окремим особинам або існуванню колонії в цілому;

злобливість бджіл – дії робочих особин, які спрямовані проти зовнішнього джерела загрози і проявляються у вигляді низки фізичних дій: зависання над об'єктом, подання звукових сигналів, переслідування, жалення;

інстинкт – це форма вродженої поведінки, набір певних дій які виникають при поєднанні внутрішнього функціонального стану організму з певними факторами навколишнього середовища;

колонія – група з кількох або великої кількості організмів;

нульова гіпотеза – це основне припущення, що підлягає експериментальній перевірці, що визначається відсутністю різниці, впливу фактору або ефекту, значення вибіркового характеристик при цьому дорівнює нулю;

ольфакторна система бджіл – органи нюху бджіл, мають вигляд щетинок, ямок або округлих плиток. Вони знаходяться на останніх 8 члениках вусиків і складаються з 18 тис. рецепторів – сенсил. За допомогою ольфакторної системи бджоли сприймають запахи квітів, бджіл своєї сім'ї, сигнальних речовин – феромонів;

поведінка – спосіб взаємодії живої істоти з навколишнім середовищем, що визначається здатністю до змін своїх реакцій під впливом внутрішніх і зовнішніх факторів;

порода у бджільництві – це велика чисельність сімей, яка природним шляхом сформувалась у певному ареалі за часткового впливу на історичний розвиток через діяльність людей в екологічному середовищі, у результаті чого бджоли характеризуються схожими між собою рисами етології, показниками екстер'єру та ознаками геному, що стало передаються потомству;

робоча бджола – бджола-робітниця, є однією із двох жіночих особин сім'ї, яка втратила в процесі еволюції здатність відтворювати потомків і виконувати біологічну функцію через анатомо-фізіологічні

зміни органів розмноження і набуття пристосувань до виконання різнобічних функцій життєзабезпечення всієї сім'ї;

стимул реакції – дія чи стан, що призводить до відповіді організму на подразник;

феромони – продукти зовнішньої секреції, що виділяються бджолами жіночих стаз (робочі бджоли і матка) і забезпечують хімічну комунікацію між особинами колонії. Феромони – гормональні речовини, що керують нейроендокринним шляхом поведінковими реакціями, процесами розвитку, а також іншими процесами, пов'язаними із соціальною поведінкою та розмноженням. Феромони продукуються спеціальними залозами бджіл;

феромон тривоги (alarm-феромон) – сигнальний феромон, що синтезується великою отрутною залозою робочих бджіл. За появи небезпечного зовнішнього фактора, гормон виділяється на кінчику жала бджіл і швидко розповсюджується у повітрі;

STING – кластер генів, що відповідають за прояв захисної поведінки в бджіл;

GABA – B – R1 – ген метаболізму гама-аміно-бутирової кислоти.

2. Захисна поведінка бджіл, як фактор пристосування до соціальної форми існування

Вивчення форм соціальної поведінки надало змогу більш детально пояснити явище альтруїзму, що у теорії Гамільтону ґрунтувалося на компенсаційному збільшенні сукупної пристосованості. Американський ентомолог Річард Александер (1974), пояснив явище альтруїзму як прояв змушеної форми поведінки із назвою «змушений альтруїзм» й називав це явище теорією батьківського впливу. Поєднання теорій виникнення еволюційних механізмів соціальної поведінки, що запропоновано Міченером, Гамільтоном і Александером, надало змогу пояснити етапи еволюції. Перший етап еволюції соціальної поведінки визначається факторами мутуалізму (Міченер), а саме щоб комахи стали жити групами, це має бути вигідним для всіх членів соціуму – виникає родина, що складається з матері та її потомства і мешкає в одному гнізді. Спільне проживання вигідно всім членам такої групи, разом вони найефективніше охороняють гніздо, краще піклуються про потомство. Саме на цьому етапі еволюції видається можливість дії відбору родичів, оскільки комахи об'єднані у родинні групи. Відбір родичів за певними умовами може призвести до часткової втрати плодовитості деякими членами родини. Якщо самка – засновниця буде вирощувати перше покоління в умовах недостатнього харчування, це може стимулювати втрату її плодючості. Недогодовані самки будуть мати знижену життєздатність і для деяких з них необхідне підвищення власної сукупної пристосованості. Недостатня годівля особин першого покоління призводить до прояву третього еволюційного механізму – батьківського впливу. В такий спосіб мати може досягнути бажаної мети: частина її доньок залишиться з нею й допоможе вирощувати значно більшу кількість плідних потомків. З'являється можливість підсилення впливу матері на потомство. Перш за все, виникає і ускладнюється поведінка домінування, що надає змогу матері

утримувати у підкоренні своїх робітників, робити їх безплідними й змушувати працювати на себе [6].

З розвитком науки, а саме молекулярної біології, стало відомо більше фактів відповідно регуляторних механізмів прояву і функціонування інстинктів кормодобування, вигодовування, захисту сім'ї.

Активність нервової системи являє собою базис будь – якої поведінки, саме сенсорна активність відповіді на стимул надає змогу повного розуміння прояву певної реакції.

Захисна поведінка бджіл має прояв у двох варіантах: охоронна поведінка біля льотків вулика та реакція знешкодження у повітрі, поза межами вулика. Бджоли-охоронці несуть вахту біля льотків вулику, де розпізнають своїх від чужих мешканців вулика за допомогою ольфакторних рецепторів, відрізняючи робочих бджіл за вуглеводним смаком кутикули. Зазвичай кількість бджіл, зайнятих вартуванням, сягає 10 - 15% від загальної кількості робочих бджіл сім'ї [21].

Важливу роль у прояві бджолами захисної поведінки гнізда відіграє сигнальний феромон тривоги. Феромон виділяється із жального апарату у процесі жаління в бджіл – знищувачів, а бджоли – охоронці виділяють сигнальний феромон біля льотка вулика у відповідь на стимул. На сьогодні відомо сигнальні шляхи регуляції та ініціації роботи генів, що відповідають за роботу феромону [27]. У процес кодування захисної поведінки бджіл залучено 19 генів, 11 з яких відповідають за формування сигнальних шляхів регуляції феромону тривоги (рис. 1). Головна роль регуляції сигналів належить ферментам головного комплексу окислювального фосфолірування, а саме ферменти комплексу IV, системи ланцюга транспорту електронів: цитохромоксидази та ферроцитохром.

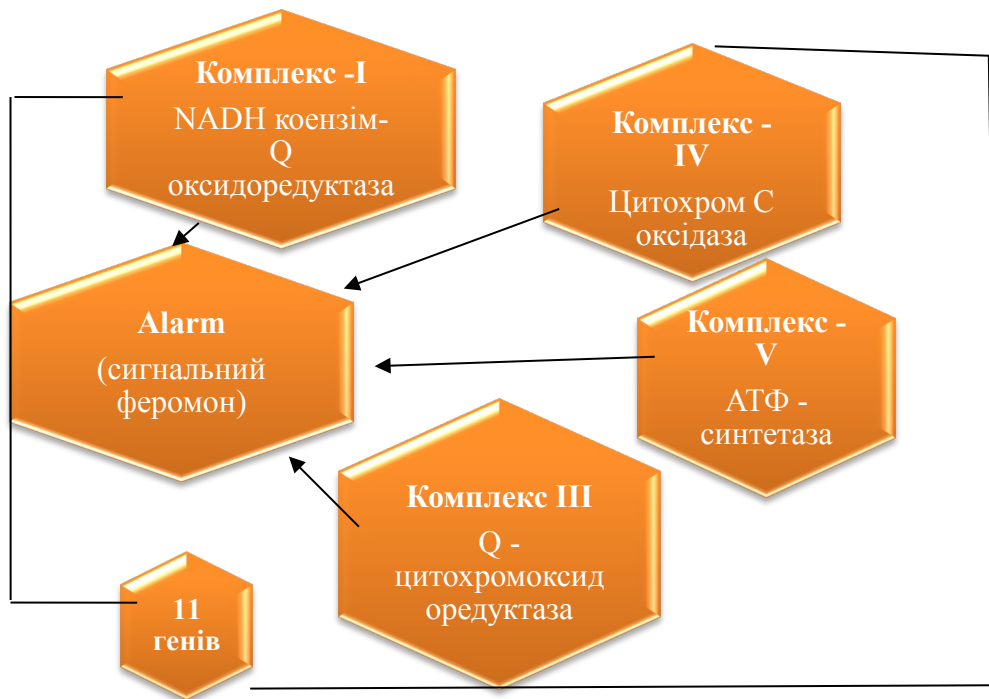


Рис. 1. Схема сигнальних шляхів окислювального фосфолірування у злобливих бджіл

Окрім сигнального феромону вченими було виявлено молекулярні механізми прояву захисної поведінки, а саме ділянки генів *Sting-1*, *Sting-2*, *Sting-3*, що відповідають за прояв захисної поведінки.

Локус *Sting-1* відповідає за ініціацію жаління у бджіл і має прояв на індивідуальному рівні, тобто на рівні окремої особини. Саме цей генетичний локус відповідає за кодування 50 пептидів, що залучені у розвиток нейронів та активність ЦНС (центральної нервової системи). Також у даній ділянці геному було виявлено гени Huntingtin protein (*htt*) – унікального протеїну всіх багатоклітинних організмів. Цей протеїн відіграє важливу функцію у стимуляції нейронної модуляції транскрипції, розширенні синаптичних зв'язків та у структурній організації дендритів [26].

Генетичний локус *Sting-2* відповідає за жальну поведінку, можливість переслідування мішені та синтез сигнального феромону. Містить гени, що синтезують арестин та мета-родопсин, активують синтез родопсину у складній структурі очей бджоли. Також у цьому

локусі розташовані метаболічні гени, що кодують ділянку рецептору гама – аміно – бутирової кислоти (*GABA – B – R1*). Гама – аміно – бутирова кислота слугує інгібітором нейронів у ЦНС.

У локусі *Sting-3* розташовано гени модуляції чутливості до візуальних та одорантних подразників, а також рецептор серотоніну *Am5HT7*. Саме рецептор серотоніну відповідає за асоціативне навчання та циркадні ритми в організмі бджоли [13].

3. Загальні засади етологічних спостережень

3. 1. Створення етограм

Поведінка являє собою безперервний потік подій. З метою вимірювання цього потоку його необхідно розділити на дискретні одиниці або категорії за допомогою побудови етограми. Складання етограми – важливий початковий етап етологічних досліджень. Етограма – перелік рухливих актів й фіксованих положень тіла, притаманних виду, й слугує «словником» для дослідника, за допомогою якого ведеться опис поведінки. Важливі особливості етограми – це кінцевість (множинність елементів, що виділяють не безмежне і їх можна підрахувати) та повнота (поведінка та стан тварини, які у будь який момент часу може бути охарактеризовано певним набором елементів етограми). Саме вище зазначені елементи характеризують необхідний ступінь формалізації під час опису поведінки й надають підґрунтя для кількісних досліджень в етології. Важливим фактором є те, що якість опису дозволило іншим дослідникам скористатись цим описом, тобто опис має бути уніфікованим. З метою опису поведінки застосовують три основні категорії: структура, наслідки і зв'язок.

Формулювання етограми вимагає використання об'єктивних назв, виключаючи суб'єктивні оцінки функції поведінки. Декілька різних за формою поведінкових паттернів можуть мати однакову функцію, а однаковій формі поведінки можуть бути надані декілька різних функцій. Саме тому краще починати з об'єктивно визначених

форм поведінки. Форми поведінки зручно об'єднувати у великі функціональні категорії, такі як «загроза» або «агресія».

Методи розподілу уваги дослідника у часі. Способи розподілу уваги спостерігача у часі поділяють на дві групи: рівномірний режим реєстрації – вибір моменту реєстрації ніяким чином не залежить від поведінки об'єкту спостережень та реєстрація обумовлена протіканням подій. У першому варіанті, наприкінці заделегідь визначеного часового інтервалу спостерігач фіксує форму поведінки, яка мала прояв у момент переходу між інтервалами (часовий зріз, відмічає наявність або відсутність кожної форми поведінки протягом інтервалу, що минув, «One-Zero» реєстрація).

Даний підхід дозволяє отримати оцінки частоти зустрічання одних елементів поведінки відносно інших елементів. У другому випадку спостерігач має фіксувати деяку передбачувану, обумовлену подію в той момент коли вона відбувається. Такою подією може слугувати певна форма поведінки (метод «Окремих поведінкових проявів»), певні зміни у зовнішньому середовищі (метод «Стимул-реакція») або початок будь-якої нової форми поведінки або момент переходу поміж двома формами (метод «Суцільного протоколювання»). Саме перелік вище зазначених методів дозволяє отримати абсолютні оцінки елементів поведінки, що зустрічаються. Для деяких форм поведінки перехід від однієї «послідовності» до іншої може бути неоднозначним. У таких випадках класифікація поведінки має включати визначення події, яка сигналізує про те, що час фіксувати наступну форму поведінки.

Наприклад, вивчення впливу розташування вуликів на поведінку бджіл та їх продуктивність. Відомо, що гострота зору бджоли в польоті по відношенню до зорового образу орієнтиру буде тим більше, чим більше в неї фасеток складного ока збуджено, при переміщенні поверхні ока комахи у одиницю часу, тобто буде визначатись лінійною швидкістю обертання орієнтиру. Саме особливості візуального сприйняття уявного обертання полю зору, що вперше було підмічено К. Фрішем, надає змогу пояснити

механізми сприйняття бджіл під час польоту зорових образів, відділених та наближених флангових орієнтирів, без чіткого сприйняття предметів фронтальних і тих, що розташовані між віддаленими та наближеними орієнтирами. Тобто бджола у польоті до джерела медозбору і у зворотньому напрямку орієнтується за віддаленими фланговими орієнтирами. Основні категорії проведення етологічних досліджень на конкретному прикладі можна представити схематично (рис. 2).



Рис. 2. Основні категорії етограми

Вулики на пасіці мають бути розташовані з урахуванням біологічної особливості зорового апарату бджіл, що базується на оптичній ілюзії. Приклад складання етограми (табл. 1).

1. Етограма льотної активності бджіл в залежності від розташування вуликів на пасиці

Дата			
Погодні умови			
Спосіб розташування вуликів	один ряд	один ряд	у вигляді латинської літери «U»
Ширина міжряддя (м)	8	8	–
Орієнтування літків відповідно сторін світу	вічками на схід	вічками на північ	різні сторони світу
Блукання бджіл	крайні вулики, вічками на південь	вулики вічками на захід	не спостерігається

Ефективним методом боротьби проти блукання бджіл являється яскраве забарвлення флангових предметів, що розташовані на відстані 5-7 м ліворуч або праворуч. Фарбування самих вуликів у кольори, що легко диференціюються бджолами у поляризаційному спектрі світла.

3. 2. Способи фокусування спостережень (Crockett, 1996)

«Тотальне спостереження», застосовується при методиці реєстрації окремих поведінкових реакцій або за методом «часових зрізів».

Сканування – облік поведінки групи біологічних об'єктів в цілому застосовують у методах «часових зрізів» за об'єктами, стан яких складно описувати одразу. Сканування має проводитись упорядковано. Фіксування даних відбувається після п'яти секунд спостереження.

Періоди реєстрації спостережень необхідно поділяти на рівні періоди реєстрації. Фокальний період реєстрації, це час протягом якого певна особина або їх група, їх поведінка або місце перебування знаходяться під спостереженням. Перед початком роботи визначається основний період спостережень, що включає повний цикл збору інформації про досліджуваний об'єкт. Тривалість основного періоду спостережень має бути коротшим, ніж «поріг втоми». З метою аналізу даних та їх статистичної обробки краще за все кожен день спостережень проводити однакові за тривалістю і числом фокальних періодів реєстрації спостереження.

3. 3. Методи вивчення та обліку поведінки

На сьогодні відомо такі методи реєстрації поведінки: метод «окремих поведінкових проявів» («ОП») за Altmann [12] обумовлені протіканням подій, що спостерігались; метод «часових зрізів»; метод «стимул-реакції» – певна зміна у зовнішньому середовищі або початок будь-якої нової форми поведінки; метод «суцільного протоколювання» застосовується при реєстрації закінчення поточної форми поведінки або момент переходу між двома формами. Вибір методу залежить від постановки мети дослідника.

З метою опису поведінки застосовують наступні базові поняття: структура, наслідки і зв'язки. Дуже важливою умовою є «збалансованість» спостережень, тобто в кожному з виділених періодів часу має бути проведена рівна кількість спостережень [10].

3. 4. Вибір методів аналізу та обробки відібраного матеріалу

З метою полегшення проведення обліку на пасіці, на відміну від стандартних розрахунків можна, застосовувати програму «Улей». Програма призначена для раціоналізації виробництва на пасіці [30]. Дозволяє провести оцінку кількості продуктів бджільництва, прогнозувати процес розвитку бджолиних родин на 12-14 днів.

Пасічник за допомогою цифрової камери фотографує всі рамки вуликів. Обробка отриманих фотографій проводиться у вище зазначеній програмі. Оператор виділяє такі категорії як: мед, перга, пилок, розплід, в програма формує звіт у формі Excel документів.

Приклад запису даних у матричній таблиці, застосований у наших дослідах наведено у таблиці 2. Перед постановкою досліду в протокол заносили наступні дані: дата, місце спостереження, погодні умови, конструкція вулика, кількість відкритих льотків, сила сім'ї, вік матки, кількість розплоду відкритого та закритого, забезпечення цукровим та білковим кормом. Внесення отриманих даних відбувалось за допомогою простої «бібліотечної» системи обліку даних, крапки формують квадрат, прямі лінії об'єднують його точки, що у сумі дорівнює десяти.

2. Матрична форма заповнення отриманих даних етологічного досліду

Дата:										
Час:										
Погодні умови (температура (°C), вологість (%), тиск (мм.рт.ст.), швидкість руху повітря):										
Конструкція вулика:										
Сила сім'ї (вуличок):										
Вік матки (рік):										
Кількість розплоду відкритого (тис. комірок):										
Кількість розплоду закритого (тис. комірок):										
Забезпечення вуглеводним кормом (кг):										
Забезпечення білковим кормом (кг):										
	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї	№ вулика /сім'ї
К-ть		•••								
Всього		12								

Саме даний приклад заповнення протоколу обліку отриманих даних надасть змогу правильно і точно провести облік і аналіз даних, що будуть отримані під час проведення етологічного дослідження у польових умовах.

4. Особливості етологічних досліджень за бджолами

4. 1. Існуючі методики визначення поведінкових реакцій бджіл

Одним з лімітуючих факторів розрахунку генетичних параметрів етологічних ознак та введення їх у селекційні програми є недосконалість методик їх кількісної оцінки. Розвитком етології у бджільництві можна враховувати перші труди французької спілки бджолярів, де у журналі «LaSantedeL'Abeille» (1978, №3) ступінь злобливості встановлювали за допомогою наступного тесту: вранці відкривають вулик і проводять поперек рамок палицею. Відповідь бджіл на подразник оцінюють у балах від 1 до 4. Рангова бальна оцінка описується наступним чином: 4 – бджоли спокійно виповзають на льоток й не злітають; 3 – реакція зависання над людиною, напад не відбувається; 2 – масовий виліт бджіл з вулика і напад; 1 – масовий виліт, напад і переслідування.

Інший метод оцінки етологічних ознак полягає у спостереженні поведінки бджіл на стільниках під час огляду гнізда. Стільник із бджолами піднімають і 5-6 разів легко постукують пальцем по верхній планці рамки. Оцінку поведінки бджіл проводять відповідно до чотирибальної шкали: 4 – бджоли не реагують на подразник; 3 – бджоли починають пересуватись по рамці; 2 – бджоли збуджуються; 1 – бджоли повисають гронами на нижньому бруску рамки.

Деякі дослідники, а саме Sport визначав ступінь злобливості бджіл за допомогою чорного шкіряного м'яча, нотуючи час першого жаління подразника. Російські дослідники модифікували бальну шкалу поведінки бджіл при огляді стільників: 4 – залишаються спокійно сидіти на стільнику; 3 – рухливі; 2 – бігають по стільнику; 1 – злітають із стільника [7].

Активність при разборці гнізда за Кривцовим: 4 – дуже спокійні; 3 – спокійні; 2 – неспокійні; 1 – агресивні. Також на сьогодні існує методика оцінки реакції бджіл на струм диму. Оцінка проводиться за чотирибальною шкалою: 4 – набирають в зобик мед й спокійно пересуваються до нижньої планки; 3 – активно забирають мед, злітають; 2 – неспокійні, швидко пересуваються на дно вулика; 1 – нападають.

4. 2. Підготовчі заходи перед проведенням досліду

Перш за все слід зауважити, що медоносним бджолам не притаманне явище агресивності, проте характерною особливістю є яскраво виражений інстинкт захисту свого житла. Тому злобливу поведінку провокує бджоляр своїми невмілими діями, виключення складають проведення маніпуляцій у погані погодні умови або невдалий час доби. Важливою умовою при роботі з бджолами є охайність бджоляра, тому що їх дуже дратує запах поту. Якщо немає можливості помитись хоча б до поясу, необхідно обов'язково протерти вологим рушником шию, пахви, шкіру в області годинника, замінити шкарпетки та взутись у спеціальне закрите взуття. Одяг дослідника має бути світлих кольорів та відтінків, чорний колір взагалі необхідно виключити із вжитку. Бджоляру необхідно зберігати внутрішній спокій перед проведенням планових робіт на пасіці. Якщо людина знаходиться у знервованому стані, краще до вуликів не підходити, оскільки бджоли дуже чутливі до стану біополя людини. Також не слід підходити до вуликів у ворсистому одязі, голова має бути покрита і захищена сіткою. Дратує бджіл ароматні цигарки, парфуми, сік трави (особливо після прополки або косіння), запах після прийому алкоголю. Але, навпаки, запах свіжого спирту, заспокоює бджіл. Також бджіл дратує мокра одежа та мокрі руки, різкі рухи руками [9].

Під час планування проведення етологічних дослідів важливою умовою є побудова схеми і плану розташування вуликів на пасіці, позиціонування льотків відповідно до сторін світу.

4. 3. Методика визначення злобливості

Перед початком проведення дослідів гнізда бджолиних сімей формували відповідно до кількості бджіл у вулику. Заселеність вуликів складала 7 рамок у конструкції вулика-лежака. Кількість піддослідних вуликів сягала у межах 25 одиниць. Постановка етологічного експерименту проводилась за рекомендаціями зарубіжних вчених [18], дещо нами модифікованої, відповідно до особливостей досліджуваного підвиду бджіл.

Керуючись основними засадами проведення етологічних досліджень за допомогою методу «суцільного протоколювання» було виявлено оптимальний термін та відрізок часу проведення дослідів. З метою визначення злобливості бджіл, постановку дослідів рекомендуємо проводити під час активного льоту бджоли. Оскільки основна маса робочих бджіл зайнята взятком. Саме тоді у гнізді залишаються представники касти «бджіл – вартових» (гарда) та «бджіл – знищувачів» (стінгерів).

Етологічні дослідження проводили на популяціях бджіл української степової породи, розташованих на пасіках Полтавської області. З метою визначення ступеня злобливості бджіл був застосований підхід «стимул-реакція». Досліди проводили о 10-00 годині у період третьої декади червня. Саме в цей період бджоли активно виконують обліт і активно поповнюють кормові запаси. Стимулом для викликання реакції бджіл слугував шкіряний папірець розміром 10 x 8 см, закріплений на пластиковому білому флагштоці розміром 0,7 x 0,5 x 100 см.

На відстані 5–10 см від льотка вулика виконували поступальні рухи прапорцем знизу до гори та у зворотному напрямку протягом 1 хвилини з інтенсивністю 2 підйоми на секунду біля кожного вулика

[23, 25]. Після закінчення тривалості впливу подразника проводили облік залишених бджолами жал на поверхні прапорця за допомогою пінцету (рис. 3; 4).

Застосування даної методики надало змогу узагальнити отримані результати дослідним шляхом. Тому, з метою уточнення стандарту породи у категорії злобливості бджіл української степової популяції, пропонуємо вимірювати цю етологічну ознаку у кількості жал, залишених на подразнику методом простих підрахунків.



Рис. 3. Проведення подразнення бджіл

Рис. 4. Підрахунок кількості жал

Запропонована методика передбачає вважати злобливими бджіл з однієї сім'ї при отриманні під час проведення досліду понад 20 жал на подразнику, помірно злобливими – із кількістю від 5 до 20 жал, не злобливими – із кількістю 0 – 5 жал на чорному прапорці. Слід зауважити, що такі категорії як злобливі, помірно злобливі, не злобливі, були включені до вимог стандартизації порід бджіл Алпатовим В. В. уже в 1948 році. Попередня обробка даних, отриманих за допомогою проведення етологічного досліду з простим підрахуванням жал від кожної бджолоїної сім'ї у співставленні із стандартом породи за Алпатовим В. В. [2], наведено у таблиці 3.

3. Кількісні показники злобливості бджіл української степової популяції Полтавської області

Загальні характеристики	Злобливі	Помірно злобливі	Не злобливі
Кількість жал/на одну бджолину сім'ю	понад 20 жал	до 20 жал	0–5 жал
Короткий опис реакції на подразник	Миттєве атакування подразника у комбінації з реакцією переслідування дослідника	З перших секунд досліду спостерігалась реакція зависання з наступним атакуванням подразника	Реакція зависання, бджоли ініціювали подразник й відлітали до вулика

Перевага методу полягає у тому, що для визначення злобливості бджолиної сім'ї немає необхідності у відкриванні кришки вулика. Наприклад, стабільна бджолина сім'я навіть невеликої сили не пропустить через льоток бджіл-злодійок, а зверху відкритого вулика, де немає охорони, не зможе себе захистити навіть найсильніша бджолина сім'я. Невиправдане відкривання кришки вулика призводить до зміни мікроклімату всередині гнізда, а виникаючі при цьому стресові фактори можуть призвести негативний вплив на діяльність бджолиної колонії.

5. Статистична обробка результатів спостережень

Застосування методів статистичної обробки дозволяє отримати характеристики поведінки, що можна зіставити із іншими кількісними показниками, проводити процедуру порівняння та встановлювати залежність між окремими перемінними, що характеризують поведінку.

Статистичні розрахунки дозволяють говорити про можливість прийняти альтернативну гіпотезу (те, що передбачали і на що сподівались) і відхилити альтернативну «нульову» гіпотезу. Відхилення нульової гіпотези дає змогу прийняти альтернативну гіпотезу, відповідно якої середнє двох масивів даних статистично достовірно різняться.

Переважає кількість біометричних критеріїв і коефіцієнтів розрахованих для даних, що підпорядковуються певному відомому розподіленню – нормальному, і мають назву параметричні. Саме такі показники практично не підходять для дослідження поведінки, оскільки вид розподілу частіше за все невідомий, а нормальне розподілення зустрічається не часто. З метою вирішення етологічних задач найчастіше застосовують критерії непараметричної статистики, рангові критерії.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою формули 1.2. Вираз можна пояснити наступним чином: бджола має можливість (P_i) вжалити одну мішень. Якщо V , кількість живих бджіл, спроможних до жаління, тоді кількість жал в секунду можна виразити як $V \times P_i$. Кожен акт жаління призводить до втрати бджоли – стінгера, тому вираз приймає наступний вигляд: $V(P_1 + P_2)$. Можливість (P_i) пов'язана з характеристиками мішені (колір, рухливість) і загальною кількістю попередніх жал (N_i) на мішені (константи $a=1; a'=8000$ та $v=0,5$). Пояснення для перемінної P_i було наведено у роботах Veskers із співавторами у 1992 році [23] при дослідженні хімічної комунікації у мурах, формула (1). Перемінна γ являє собою можливий рівень чутливості мішені. Бджоли випадково обирають одну мішень, що можна виразити як $\gamma_i < 0,5$. Біологічно резонно застосовувати формулу у наступному вигляді: $F_i = N_i [1 + N_i/\delta]$ для N_i , δ буде мати значення ступеню насичення мішені жалом бджіл, а F_1 , функція прояву ефекту насичення. У випадку, коли δ має дуже великі значення, тоді $F_i = N_i$. Якщо $N_i = 0, P_i = \gamma_i(a/a')$, для великих значень $N_i, P_i = \gamma_i b$.

Облік експериментальних даних спостережень проводили за наступною формулою:

$$P_i = \gamma_i(a + bNi^2)/(a' + Ni^2)$$

$$N_1 + N_2 = N; i = 1, 2 \quad (1)$$

Результати розрахунків висвітлюють, наскільки бджолина сім'я збуджена втручанням чужинця, зможе сконцентрувати сили і швидко сфокусувати захисну атаку на одну мішень [23]. У випадку великих значень отриманих внаслідок експерименту даних, застосовують метод математичної моделі Монте-Карло за розподіленням Пуассона [4, 11].

Бібліографія

1. Аветисян ГА. Разведение и содержание пчел. Москва: Колос; 1983. 271 с.
2. Алпатов ВВ. Породы медоносной пчелы. Москва: Московское общество испытателей природы; 1948. 183 с.
3. Броварський ВД. Розведення та утримання бджіл. Київ: Урожай; 1995. 224 с.
4. Войтишек АВ. Основы метода Монте-Карло: учебное пособие. – Новосибирск; 2010. 108 с.
5. Иванова ВД. Технологія виробництва продуктів бджільництва - курс лекцій: Миколаїв; 2009. 248 с.
6. Кипятков ВЕ. Происхождение общественных насекомых. Москва: Знание; 1985. 64 с.
7. Кривцов НИ. Корреляция этологических признаков пчел. Пчеловодство. 2007;7:11.
8. Мельник В. Про злобливість бджіл. Український пасічник; 2008;8:14.
9. Поліщук ВП. Бджільництво. – Львів: Український пасічник; 2001. 296.
10. Попов СВ. Руководство по научным исследованиям в зоопарках. Москва; 2008. 165.
11. Aron S, Deneubourg JL, Goss S and Pasteels JM. Biological Motion, Lectures notes in Biomathematics. Alt, W& Hoffman G.(edc)., (Springer, Berlin). 1990; 89: 533-547.

12. Altmann, J Observational study of behavior: Sampling methods. Behaviour. 1974;49(3-4):227-267.
13. Andrew D Ammons, Greg J Hunt. Characterization of honey bee sensitivity to ethanol vapor and its correlation with aggression. Alcohol [Internet]. 2008;42:129-136. Available from: <http://www.researchgate.net/publication/5493411>
DOI:10.1016/j.alcohol.2007.12.005.
14. Calderone NW and Page RE. The evolutionary genetics of division of labor in colonies of the honeybee (*Apis mellifera*). Nature. 1991;138:69-92.
15. Cédric Alaux & Gene E, Robinson. Alarm Pheromone Induces Immediate–Early Gene Expression and Slow Behavioral Response in Honey Bees. J Chem Ecol. 2007;33:1346-1350.
16. Christian WW Pirk, Joachim R de Miranda, Matthew Kramer, Tomàs E Murray, Francesco Nazzi, Dave Shutler, Jozef J M van der Steen and Coby van Dooremalen. Statistical guidelines for *Apis mellifera* research. Journal of Apicultural Research. 2013;52(4).
17. Dunbar, RIM. Some aspects of research design and their implications in the observational study of behaviour. Behaviour 1976;58:78-98.
18. Greg J Hunt, Ernesto Guzman – Novoa, Joe L Uribo – Rubio and Daniel Prieto – Merlos. Genotype – environment interactions in honeybee guarding behavior. Animal behavior. 2003;66:459-467.
19. Giray T, Guzman – Novoa E, Aron C, Zelinsky B, Fahbranch SE, Robinson GE. Genetic variation in worker temporal polyethism and colony

- defensiveness in the honeybee. *Apis mellifera*. *Behav. Ecol.* 2000;(11):44-55.
20. Martin P and Bateson P. *Measuring Behaviour; An Introductory Guide*. Second Edition. Cambridge University Press. Cambridge; 1993. 188 p.
21. Michael D Breed, Ernesto Guzmán-Novoa, and Greg J Hunt Defensive behavior of honeybees: Organization, Genetics, and Comparisons with Other Annu. *Rev. Entomol. Bees.* [Internet] 2004;49:271-98 Available from: <https://www.researchgate.net/publication/8980795> DOI:10.1146/annurev.ento.49.061802.123155
22. Morgane Nouvian, Judith Reinhard and Martin Giurfa. The defensive response of the honeybee *Apis mellifera*. *Journal of Experimental Biology.* 2016;219:3505-3517.
23. J Millor, M Pham-Delegue, JL Deneubourg and S Camazine. Self-organized defensive behavior in honeybees. *PNAS.* 1999;96(2).
24. Jon T Sakata, David Crew, F Gonzales – Lima. Behavioral correlates of differences in neural metabolic capacity. *Brain Research Reviews.* 2005;48:1-15.
25. Michael D Breed, Ernesto Guzmán-Novoa, and Greg J Hunt Defensive behavior of honeybees: Organization, Genetics, and Comparisons with Other Bees. *Annu. Rev. Entomol.* 2004;49:271-98.
26. Jon T Sakata, David Crew, F Gonzalez-Lima. Behavioral correlates of differences in neural metabolic capacity. *Brain research Reviews.* 2005;48:1-5.

27. Patrice De'glise, Matthieu Dacher, Emmanuelle Dion, Monique Gauthier and Catherine Armengaud. Regional Brain Variations of Cytochrome Oxidase Staining During Olfactory Learning in the Honeybee (*Apis mellifera*) Behavioral Neuroscience. 2003;117(3):540-547.
28. Ricarda Scheiner, Charles I Abramson, Robert Brodschneider, Karl Crailsheim, Walter M Farina, Stefan Fuchs, Bernd Grünewald, Sybille Hahshold, Marlene Karrer, Gudrun Koeniger, Niko Koeniger, Randolph Menze, Samir Mujagic, Gerald Radspieler, Thomas Schmickl, Christof Schneider, Adam J Siege, Martina Szopek and Ronald Thenius. Standard methods for behavioural studies of *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research. 2013;52(4).
29. Stort AS Genetic study of aggressiveness of two measure subspecies of *Apis Mellifera* in Brazil. Apicultura. 1975; 14(3-4).
30. Пчеловодство выходного дня [Internet] <http://apiary.su/> Россия: Щербаков Валентин, Малиновкин Дмитрий [18.01.2016]. Доступно <http://apiary.su/kompyuter-i-pchelovodstvo/rukovodstvo-polzovatelya-programmoj/>

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК

ДЛЯ НОТАТОК